Boll. Soc. Hist. Nat. Balears, 32 (1988): 7-18. Palma de Mallorca

DINÁMICA DE LAS BACTERIAS FOTÓTROFAS EN UNA LAGUNA MEROMÍTICA (ESTANY DES CIBOLLAR, ALBUFERA DE MALLORCA)

C. PICÓ & R. A. ROSSELLÓ[1]

PALABRAS CLAVE: Bacterias fotótrofas, meromixis, laguna costera.

KEYWORDS: Phototrophic bacteria, meromixis, coastal lagoon.

RESUMEN. S'Estany des Cibollar es una pequeña laguna situada en el NW de la Albufera de Alcudia (Mallorca). Dicha laguna se caracteriza por seguir una dinámica meromíctica, determinada básicamente por la existencia de un doble aporte de agua: uno superficial de agua dulce y otro de agua marina de elevada densidad que penetra de forma directa y/o por infiltración.

Las elevadas concentraciones de sulfuro de hidrógeno presentes en el monimolimnion hacen posible el desarrollo de una importante población de bacterias fotosintéticas del azufre, que presentan la mayor densidad en la quimioclina. La especie mayoritaria de esta comunidad ha sido identificada como *Chlorobium phaeovibrioides* a partir del estudio de los espectros de absorción de sus pigmentos, así como de observaciones microscópicas y de sus características de hábitat.

SUMMARY. PHOTOTROPIC BACTERIA DYNAMICS IN A MEROMICTIC LAGOON (ESTANY DES CIBOLLAR, ALBUFERA OF MALLORCA). S'Estany des Cibollar is a coastal lagoon in the NW of the Albufera of Alcudia (Mallorca). It follows meromíctic dynamics due to a input of water from two sources: one is surface freshwater and the other marine of high density, which intrudes directly and/or by infiltration.

---

[1] Departamento de Biología y Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias, Universitat de les Illes Balears.

The high concentrations of hydrogen sulphide in the monimolimnion result in the development of a significant population of photosynthetic sulfur bacteria, which is the chemocline. The most frequent species here is *Chlorobium phaeovibrioides*, identified by its pigment absortion spectra, by microscopy and by the characteristics of its habitat.

RESUM. S'Estany des Cibollar, estany dels Tamarells o d'en Mama, és una petita llacuna situada al NW de S'Albufera i caracterizada per seguir una dinàmica meromíctica. La meromixis ve condicionada essencialment per una doble entrada d'aigua, una dolça d'origen continental que arriba en superficie i una altra marina, d'elevada densitat, que ho fa be directament i/o per infiltració.

Les elevades concentracions de sulfur d'hidrogen que es troben en el monimolimnion possibiliten el desenvolupament d'una important població de bactèries fotosintètiques del sofre, amb una màxima densitat a la quimioclina. L'espècie més abundant a aquesta comunitat és *Chlorobium phaeovibrioides*, la seva identificació s'ha realitzat a partir dels espectres d'absorció dels pigments, de les observacions microscòpiques i també per les característiques del seu hàbitat.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de comunidades planctónicas de bacterias fototrofas del azufre ha sido descrito en numerosos lagos de la región mediterránea española (GUERRERO *et al.*, 1978, 1980, 1985, 1987; ABELLÀ *et al.*, 1980, 1985; VAN GEMERDEN *et al.*, 1985; MIRACLE & VICENTE, 1985).

Dichas comunidades bacterianas están asociadas a un tipo característico de lagos, que siguen una dinámica meromíctica. En ellos la formación de una quimioclina estable favorece el establecimiento y mantenimiento de condiciones reductoras en el monimolimnion. Esta situación posibilita la existencia de concentraciones elevadas de sulfuro de hidrógeno, procedente de la reducción de sulfatos, que unido a una iluminación suficiente, permite el desarrollo de densas poblaciones de bacterias fototrofas del azufre.

Estas bacterias se localizan en los lagos meromícticos restringiéndose frecuentemente a una capa que se halla asociada a la quimioclina, debido a sus condiciones particulares de hábitat y al efecto de autosombra. En determinadas ocasiones dichos microorganismos se extienden a todo el monimolimnion con densidades variables (MONDRAGÓN *et al.*, 1984). Estas bacterias pueden encontrarse también formando una fina película en contacto con el sedimento (CZECZUGA, 1985), o incluso, en casos excepcionales como en la laguna del Sisó (Banyoles), pueden invadir toda la masa de agua (GUERRERO *et al.*, 1980).

El papel de estas bacterias en el ciclo del azufre es de suma importancia, participando en la oxidación del sulfuro de hidrógeno a sulfatos (PARKIN & BROCK, 1981).

S'Estany des Cibollar está ubicado en el Norte de la Albufera de Alcudia a unos 750 m del mar. Su profundidad media es de 3,3 m, con un máximo de 8,25 m, una superficie de 4 Ha y un volúmen de 130 Dm^3 (MARTINEZ TABERNER *et al.*, 1989). Dicha laguna sigue una dinámica meromíctica, cuya picnoclina, que es básicamente una quimioclina, se mantiene a lo largo del año, sufriendo fluctuaciones en el eje vertical (MOYÀ *et al. in press*).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los muestreos se realizaron de forma periódica con intervalos de 21 días aproximadamente, siempre a la misma hora (entre las 11 y las 12 h), obteniendo las muestras de agua de distintos niveles del perfil vertical en el punto de máxima profundidad de la laguna.

Las muestras de agua se obtuvieron mediante un tomamuestras de tipo Friedinger de 1 litro de capacidad. Las medidas de temperatura se realizaron "in situ" mediante un termómetro eléctrico. La luminosidad se determinó también "in situ" mediante un fotorresistor de sulfuro de cadmio PHYWE, modelo 07024.

El oxígeno disuelto se midió utilizando el método de STRICKLAND & PARSONS (1972), basada en la técnica original de Winkler. La determinación de la concentración de ión sulfuro se realizó mediante métodos iodométricos (A.P.H.A. 1981). Las muestras de agua para ambas determinaciones se recogen en el interior de botellas Winkler, y son fijadas inmediatamente después de su obtención.

La conductividad y el pH se midieron mediante medidores eléctricos específicos, de las casas Radiometer, modelo CDM2, y Crison, modelo Digit-501, respectivamente. Con el fin de referir todas las conductividades a la temperatura de 20°C, se determinó la temperatura de la muestra simultaneamente a la determinación de la conductividad; la corrección se realizó a partir de una tabla original de RODIER (1978). Previamente a la filtración de la muestra de agua se determinó la alcalinidad siguiendo el método descrito por GOLTERMAN *et al.*, (1978). La determinación de la concentración de ión cloruro se realizó en la muestra de agua filtrada siguiendo una modificación

del método KNUDSEN (1901). Las concentraciones de nutrientes, nitritos y fósforo soluble reactivo se analizaron utilizando los métodos recogidos en STRICKLAND & PARSONS (1972).

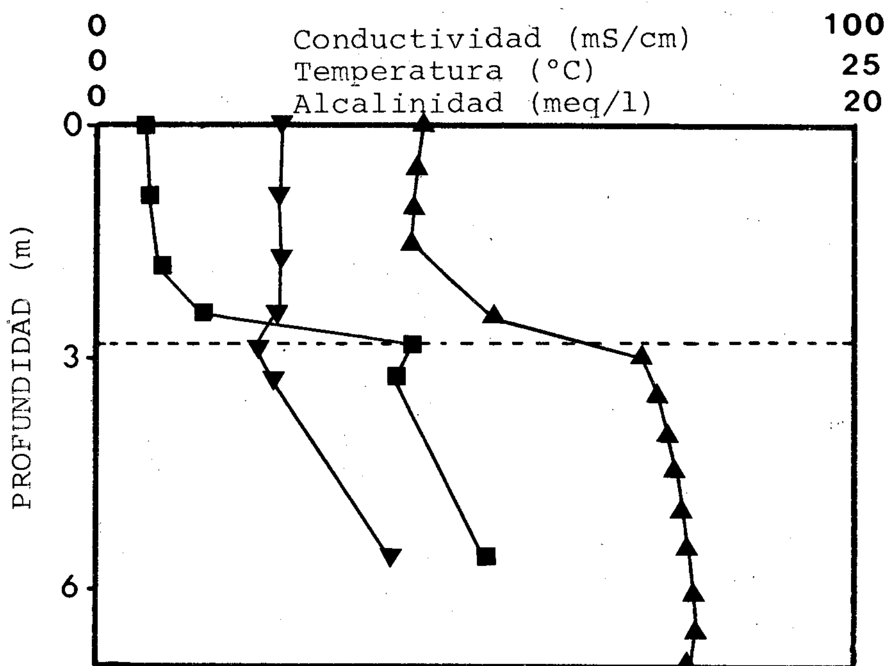
Se han realizado observaciones de muestras frescas en un microscopio de campo oscuro (Leitz modelo laborlux-12), y por microscopía electrónica de transmisión (Hitachi modelo H-600) utilizando la técnica de tinción negativa con ácido fosfotungstico

Tras la filtración de la muestra de agua se procedió a la extracción de los pigmentos de los microorganismos retenidos en el filtro, dicha extracción se realizó en acetona al 90%, conservando el extracto a temperatura inferior a 4° C de 12 a 48 h. Para la lectura de los espectros de absorción se utilizó un espectrofotómetro de barrido continuo (Hitachi modelo 22OS). Las concentraciones de clorofila se obtuvieron aplicando la fórmula de PARSONS & STRICKLAND (1965); las de bacterioclorofila *d* por la ecuación de TAKAHASHI & ICHIMURA (1970); la concentración de bacterioclorofila *e* mediante la expresión Bchl $e= 10,2/.D_{648}/.v/V$ (v= vol. extracto, V= vol. filtrado) ABELLÀ, (comunicación personal); los valores de carotenoides se obtuvieron mediante la ecuación de GUERRERO *et al.* (1980). El espectro de absorción de los pigmentos "in vivo" se ha efectuado realizando un proceso de concentración de la muestra por centrifugación y resuspendiendo el precipitado de células con un medio isotónico (sacarosa 0,25M). El espectro de absorción "in vivo" e "in vitro" se ha efectuado realizando un barrido contínuo desde 850 nm hasta 370 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados que se presentan corresponden al período comprendido entre Noviembre de 1986 y Septiembre de 1987. En la figura 1 se representa la distribución vertical de los parámetros físico-químicos, contrastando dos situaciones del período anual estudiado que han sido seleccionadas como representativas de la variación estacional. En diciembre los gradientes de conductividad y temperatura permiten situar la quimioclina a una profundidad entorno a los 2,8 m, mientras que en junio ésta sufre un importante descenso situándose alrededor de los 4,3 m de profundidad. Esto es atribuible a la entrada de agua dulce en la laguna (MARTINEZ TABERNER, 1988).

La situacion de la quimioclina a lo largo del año coincide con la interfase entre las condiciones oxigénicas del mixolimnion y anoxigénicas del monimo-



0
3
6
PROFUNDIDAD (m)

Fig. 1.– Distribución vertical de la alcalinidad (▼), temperatura (▲) y conductividad (■), y situación de la quimioclina en dos períodos estacionales distintos, octubre de 1986 (gráfica superior)y junio de 1987 (gráfica inferior).

Vertical distribution of alkalinity (▼), temperature (▲) and conductivity (■), and chemocline location intwo different sampling dates, October 1986 (up) and June 1987 (down).

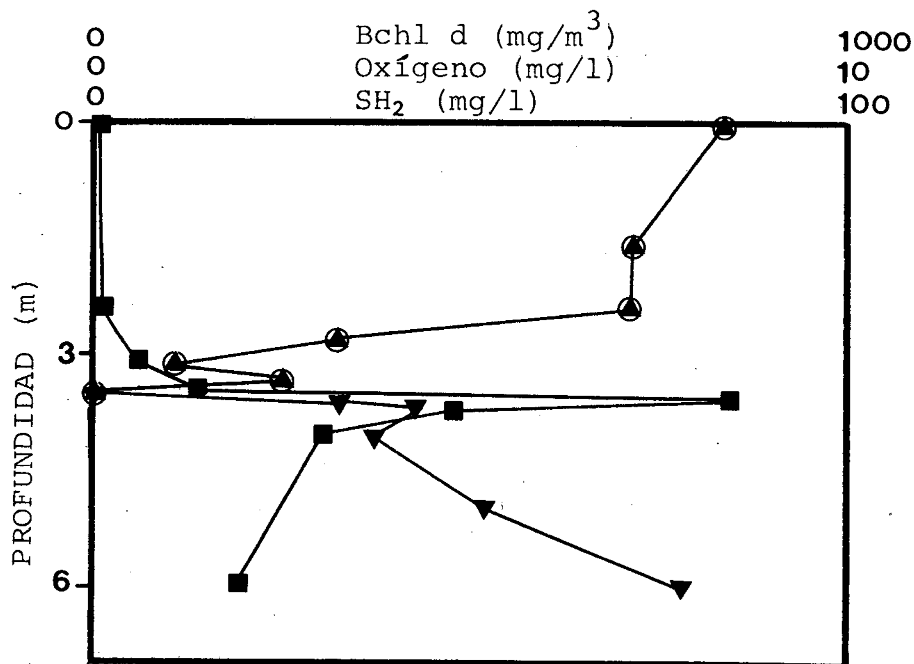


Fig. 2.– Perfil vertical de la concentración de oxígeno (●), sulfuro de hidrógeno (▼) y bacterioclorofila d (■) en Febrero de 1987.

Vertical profile of oxygen concentration (●), sulfide (▼) and bacteriochlorophyll d (■) in February 1987.

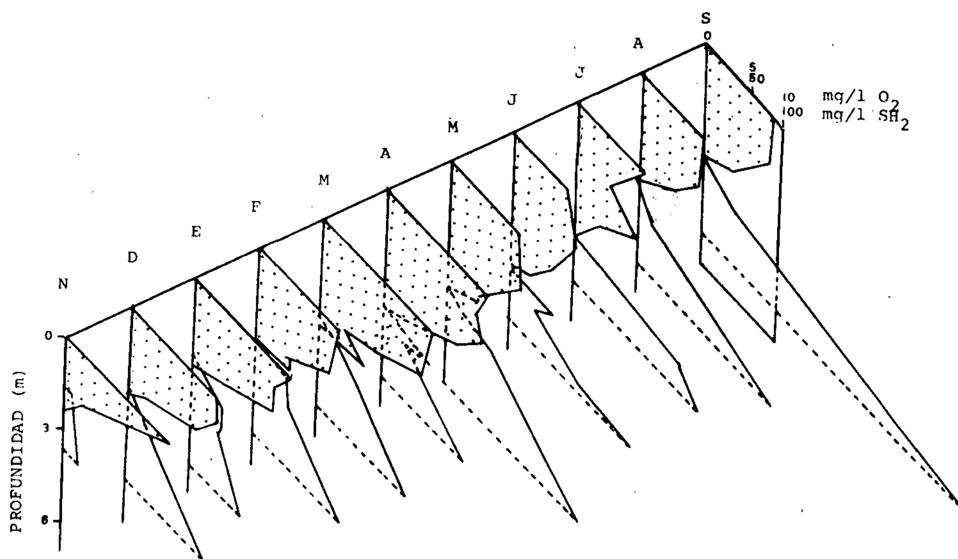


Fig. 3.– Fluctuaciones mensuales en la distribución vertical de las concentraciones de oxígeno disuelto (punteado) y de sulfuro de hidrógeno (en blanco).

Monthly fluctuations of the vertical distribution of oxygen (stippled) and sulfide (white) concentrations.

limnion (donde se acusan elevadas concentraciones de sulfuro de hidrógeno), condicionando en dicha interfase un microambiente de características peculiares con concentraciones mínimas de ambos compuestos (figura 2). Es en esta zona donde se localiza la máxima densidad de bacterias fotótrofas (figura 3).

El desarrollo de la comunidad de bacterias fotosintéticas está ligada a la disponibilidad de nutrientes en el hábitat, de tal modo que se observan variaciones en la densidad bacteriana en concordancia con las oscilaciones en la concentración de nutrientes aprovechables, particularmente el fósforo (figura 4) y nitritos (figura 5).

La dinámica particular de esta laguna favorece el desarrollo de bacterias fotótrofas. Se han identificado dos especies pertenecientes a la familia de *Chlorobiaceae*: *Chlorobium phaeovibrioides* y *Chlorobium limicola*, a partir de los espectros de absorción de los pigmentos (figura 6). *Chlorobium phaeovibrioides* muestra dos máximos de absorbancia, uno a 465 nm correspondiente al Isorrenierateno (GUERRERO *et al.*, 1987), y otro a 654 nm correspondiente a Bacterioclorofila *d* (ABELLÀ *et al.*, 1980). No obstante, existe cierta controversia en la literatura acerca de la Bacterioclorofila presente

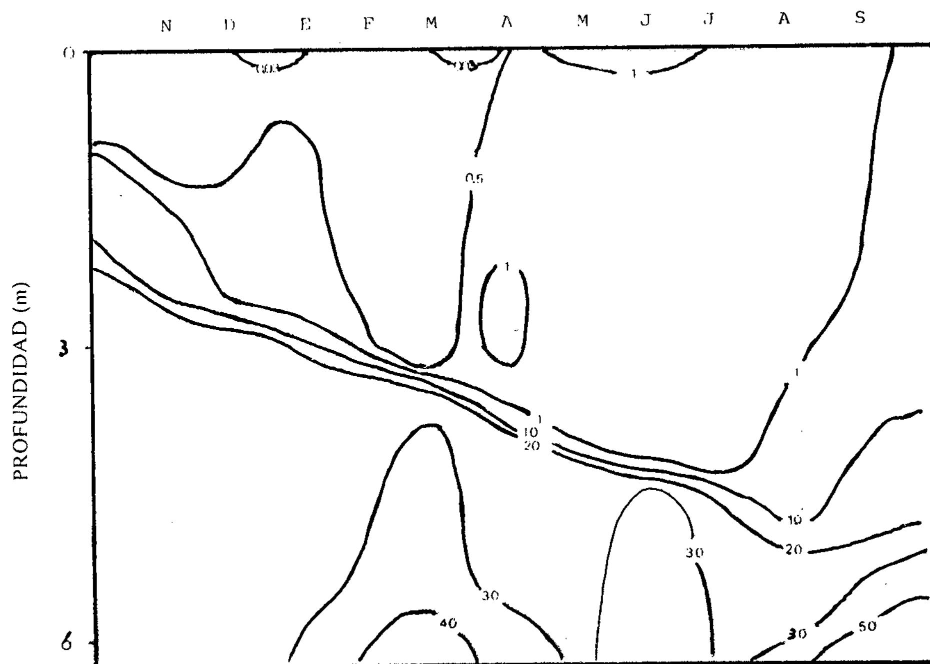


Fig. 4.– Variación espacio-temporal de la concentración de fosfatos expresada en µg-at/l.

Depth-time distribution of phosphate concentration (µg-at/l).

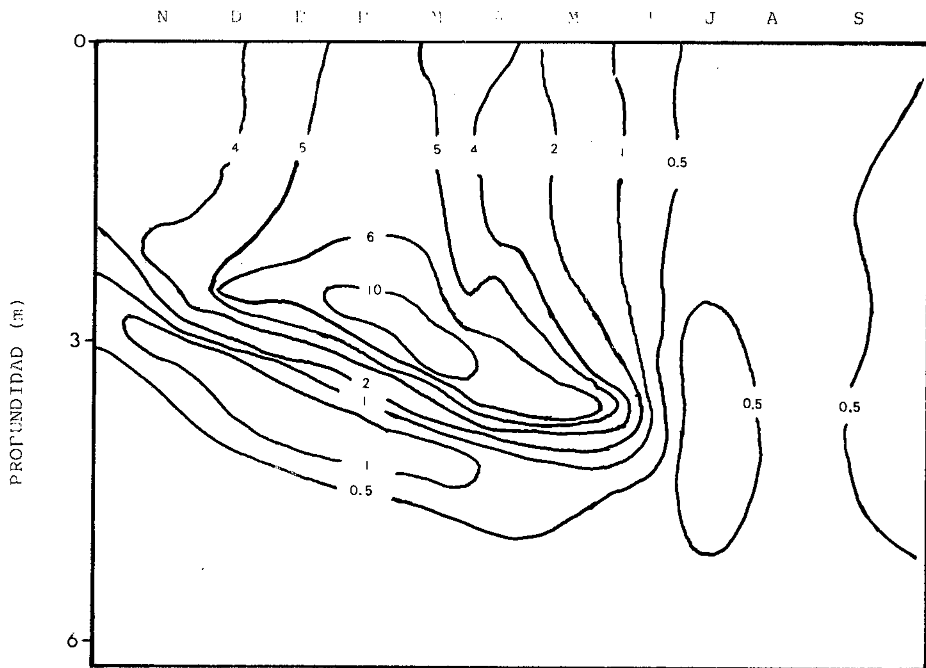


Fig. 5.- Variación espacio-temporal de la concentración de nitritos expresada en μg-at/l.

Depth-time distribution of nitrite concentration (μg-at/l).

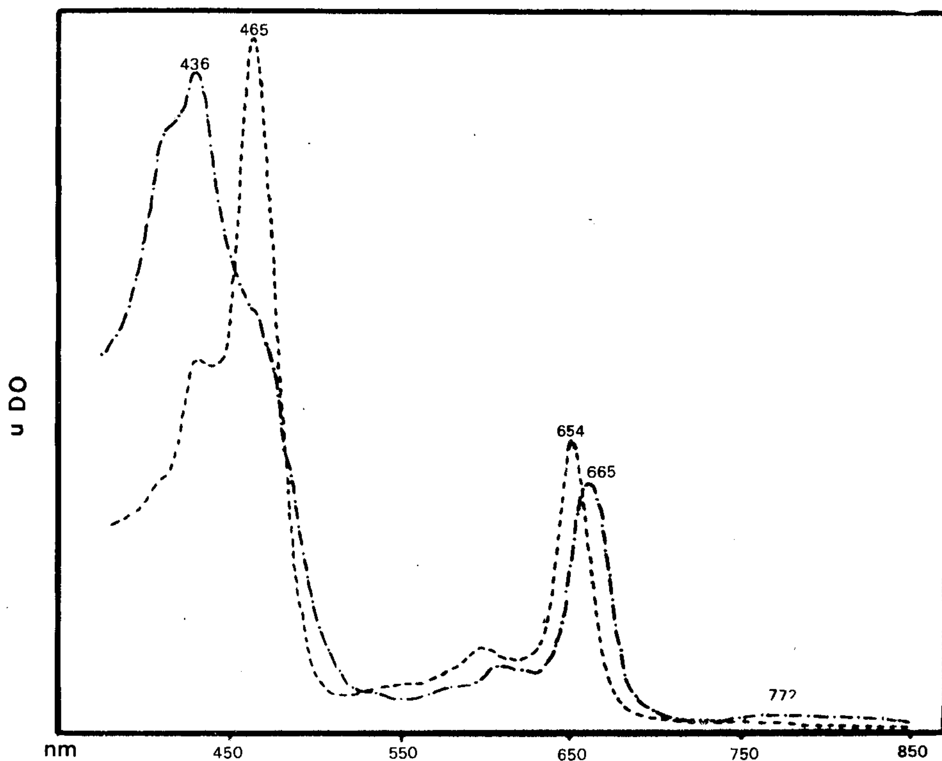


Fig. 6.- Espectro de absorción de los extractos de pigmentos en acetona, de *Chlorobium phaeovibrioides* (-.-.-) y *Chlorobium limicola* (-.-.-).

Absorption spectra of pigment extracts in acetone for *Chlorobium phaeovibrioides* (-.-.-) and *Chlorobium limicola* (-.-.-).

en dicha especie, inclinándose algunos autores por la Bacterioclorofila *e* (MONDRAGÓN *et al.*, 1984; MIRACLE VICENTE 1985; GUERRERO *et al.*, 1987). *Chlorobium limicola* presenta máximos a 436 nm debido al Clorobacteno, y a 665 nm correspondiente a la Bacterioclorofila *c* (MONDRAGON *et al.*, 1984). La identificación de estas especies se ha corroborado con el estudio de la morfología, tamaño y movilidad, así como de su ultraestructura, que muestra la existencia de clorosomas o vesículas de clorobium, dispuestas en la periferia de la célula por debajo de la membrana citoplasmática (MONDRAGÓN *et al.*, 1984).

En la figura 7 se representan los niveles de bacterioclorofila durante el ciclo anual, utilizados como índice estimativo de la densidad bacteriana. Se pueden distinguir básicamente dos períodos a lo largo del año: una primera

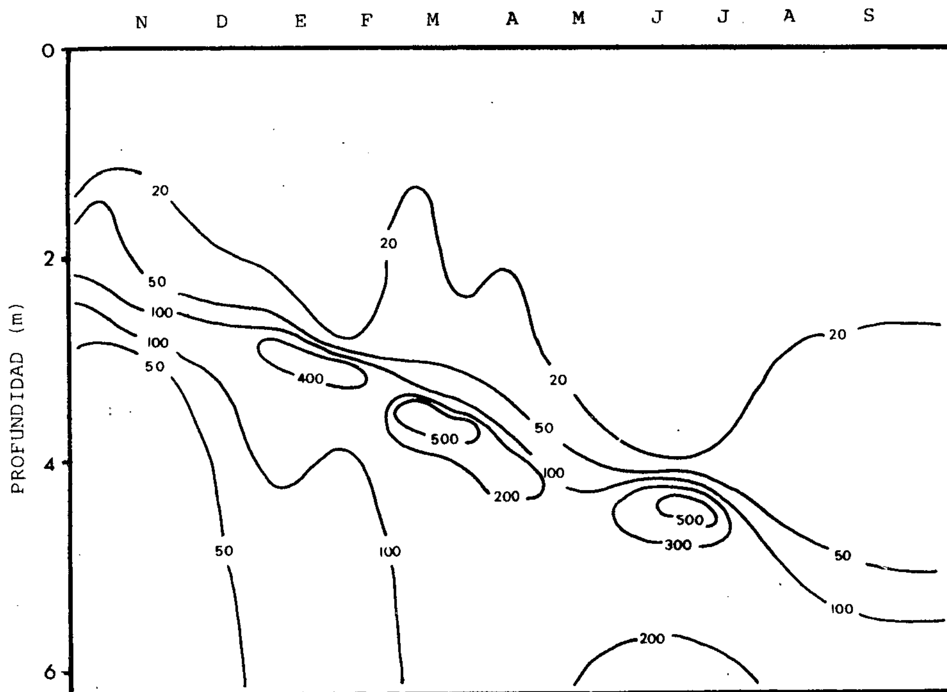


Fig. 7.- Variación espacio-temporal de la concentración de Bacterioclorofila *d* expresada en mg/m^3.

Depth-time distribution of bacteriochlorophyll *d* concentration (mg/m^3)

situación que comprende los meses de Octubre de 1986 a Julio de 1987, donde el microorganismo predominante se ha identificado como *Chlorobium phaeovibrioides*. En este período se acusa la máxima densidad bacteriana en el límite inferior de la quimioclina, con un máximo de bacterioclorofila *e* superior a 500 mg/m^3 registrado en el mes de Marzo. A mayor profundidad la densidad bacteriana se ve disminuida debido presumiblemente al efecto de autosombra, que determina condiciones subóptimas para su desarrollo. La capa de máxima densidad de bacterias fotótrofas sufre durante este período un descenso paulatino en profundidad en concordancia al que sufre la quimioclina. Los estadíos de máximo desarrollo microbiano coinciden con los de mayor disponibilidad de nutrientes, especialmente nitrógeno.

En el segundo período, que se iniciaría en el mes de Agosto, se observa una dispersión de la comunidad microbiana a lo largo de toda la masa de agua monimolimnética, y un desplazamiento importante de la especie dominante en los meses anteriores, *Chlorobium phaeovibrioides*, por *Chlorobium limicola* debido al cambio de las condiciones ambientales. Este desplazamiento bacteriano está íntimamente ligado a la particular dinámica de esta laguna. Las condiciones ambientales del período invernal favorecen un notorio predominio de *Chlorobium phaeovibrioides* cuya mayor densidad se acusa en la quimioclina. El importante aporte de agua dulce durante el inicio de la primavera ocasiona un descenso en profundidad de la quimioclina, y en consecuencia el establecimiento de condiciones subóptimas para el desarrollo de esta especie. Este hecho, junto con el aumento de temperatura de la masa de agua durante el período estival, y el incremento de la densidad fitoplanctónica en el mixolimnion, que dificulta la penetración de la luz, conduce a un desplazamiento importante en la comunidad microbiana de *Chlorobium phaeovibrioides* por *Chorobium limicola*, que se convierte en la especie dominante ocupando prácticamente toda la masa de agua monimolimnética a partir del mes de agosto, resolviéndose así la competencia entre ambas especies. Dicha relación de dominancia de *Chlorobium limicola* durante el período estival ha sido previamente descrita en otras lagunas de la región mediterránea, como el Estany de Cullera (MONDRAGÓN *et al.*, 1984), Coromines, Negre, Sisó, Moncortés y Estanya (GUERRERO *et al* ., 1987).

AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental se ha realizado en el laboratorio de Biología General (Dpto. Biología i Ciències de la Salut, U.I.B.). Agradecemos a los Drs. G. Moyà y G. Ramon su colaboración y asesoramiento.

BIBLIOGRAFÍA

ABELLÀ C., E. MONTESINOS & R. GUERRERO 1980. - Field studies on the competition between purple and green sulfur bacteria for available light (Lake Siso, Spain). In: Dokulil M., Metz H., Jewson D. (eds.), *Developments in Hydrobiology*, 3: 161-171. Dr W. Junk, The Hague.

ABELLÀ C., E. MONTESINOS & J. TURET 1985. - Colonization and dynamics of phototrophic bacteria in a recently formed lagoon in Banyoles karstic area (Girona, Spain). *Scientia gerundensis*, 10: 33-49.

A.P.H.A. 1980. *Standard methods from the examination of water and wastewater* . American Public Health Association. Washington. 1134 pp.

CZECZUGA B. 1968. -Primary production of the sulfuric bacteria *Thiopeda rosea* Winogr. (Thiorhodaceae). *Photosyntetica*, 2: 161-166.

GOLTERMAN H.L., R.S CLYMO, & M.A.M. OHNSTAD 1978. -*Methods for Physical and Chemical Analysis of Fresh Water.* Blackwell. Oxford. 214pp.

GUERRERO R., C. ABELLÀ, & M.R. MIRACLE 1978. -Spatial and temporal distribution of bacteria in a meromictic lake basin: relationships with physicochemical parameters and zooplancton. *Verh. Internat. Verein. Limnol.,* 20: 2264-2271.

GUERRERO R., E. MONTESINOS, I. ESTEVE, & C. ABELLÀ 1980. -Physiological adaptation and growth of purple and green sulfur bacteria in a meromictic lake (Vila) as compared to a holomictic lake (Siso). In: Dokulil M., Metz H., Jewson D. (eds.), *Developments in Hydrobiology,* 3: 161-171. Dr. W Junk, The Hague.

GUERRERO R., E. MONTESINOS, C. PEDRÓS-ALIÓ, I. ESTEVE, J. MAS, H. GEMERDEN, P.A.G. VAN HOFMAN & J.F. BAKKER 1985. -Phototrophic sulfur bacteria in two Spanish lakes: Vertical distribution and limiting factores. *Limnol. Oceanogr.* 30: 929-931.

GUERRERO R., C. PEDRÓS-ALIÓ, I. ESTEVE, & J. MAS 1987. -Communities of phototrophic sulfur bacteria in lakes of the Spanish Mediterranean region. Ecology of Photosynthetic prokaryotes. *Acta Academiae Aboensis*, Finland, 47: 125-151.

KNUDSEN M. 1901 -*Hydrographical tables* GEC. BAD. Copenhague 63 pp.

MARTÍNEZ TABERNER, A., A. DÍEZ, V. FORTEZA, G. MOYÀ, G. RAMON, A. SASTRE, M.A. SOBERATS, M. SOCIAS, F.J. TEBAR, & J. XAMENA, 1989. -Característiques morfomètriques dels principals estanys de l'Albufera de Mallorca. *Treballs de Geografia*, 41: 19-31.

MIRACLE M.R. & E. VICENTE 1985. -Phytoplankton and photosynthetic sulfur bacteria production in the meromictic coastal lagoon of Cullera (Valencia, Spain). *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 22: 2214-2220.

MONDRAGÓN R., E. VICENTE & J.J. GUILLENEA 1984. -Aislamiento e identificación de bacterias fotosintéticas en el monimolimnion del Estany de Cullera (Valencia). *Limnética*, 1: 78-85.

MOYÀ G., G. RAMON, A. MARTINEZ TABERNER, V. FORTEZA, C. PICÓ, C. PONSELL, R. ROSSELLÓ & M. SOBERATS. -Limnology of a meromictic coastal lagoon l'Estany del Cibollar (Majorca, Balearic islands). *Limnetica*, 5: en prensa.

PARDIN T.B. & T.D. BROCK 1981. -The role of phototrophic bacteria in the sulfur cycle of a meromictic lake. *Limnol. Oceanogr*, 26(5): 880-890.

PARSONS T.R. & J.D.H. STRICKLAND 1963. -Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *Journal Marine Research*, 21: 155-163.

RODIER, J. 1975. -*Análisis de las aguas*. Omega. Barcelona, 1059 pp.

STRICKLAND J.D.H. & T.R. PARSONS 1972. -*A practical handbook of seawater analysis*, 2nd ed. Bulletin 167, Fisheries Res. Board Canada, Ottawa.

TAKAHASHI M. & S. ICHIMURA 1970. -Photosynthetic properties and growth of photosynthetic sulfur bacteria in lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 15: 929-944.

VAN GEMERDEN H., E. MONTESINOS, J. MAS & R. GUERRERO 1985. -Diel cycle of metabolism of phototrophic purple sulfur bacteria in lake Cisó (Spain). *Limnol. Oceanogr.*, 30: 932-943.